



# 葉の成長系譜を調べる

東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科 教授 和田<sup>わだ</sup> 直之<sup>なおゆき</sup>

## 1. 実験のねらい

高校教科書の「発生」の章に、イモリ胞胚の一部を染色して発生させて、染色された場所が将来どの組織に分化するのかを調べる「発生系譜解析」の記載がある。発生系譜解析は、初期胚だけでなく、器官の原基の発生を理解する上でも重要な研究である。系譜解析により、器官原基の特定の場所が最終的にどこに分布するかがわかるだけでなく、複数の標識点の最初と最後の分布場所を比較することで、原基がどのように変

形して最終形態を作るのかについての知見が得られる。系譜解析は、原基の形が変わる面白さを理解する方法であるが、一方で動物胚は小さく、局所的な標識操作は容易ではない。ここでは、組織標識・系譜解析を「疑似体験」する実験として、庭木の葉の標識実験を紹介する。いわゆる「葉」の形をしていても、初期と後期で比較することで、最初に生じた若い葉がそのまま均一に大きくなるのか、それとも特定の場所がより成長しているのか、などの情報が得られる。

## 2. 準備

(1)葉を選ぶ：印をつけやすい広葉を持った植物であれば、庭木に限らず、アサガオなどの一年性植物でも問題ない。その植物の成長が始まる時期（主に春）に、茎や枝の先端部に生じる小さな葉を選ぶ。また、今回の例で示したように、萼片や花卉でも可能である。

(2)ペン：耐水性、耐光性インクのもので、色は明るい方がよい。筆者が使用したのは三菱鉛筆のポスカ（中字）の赤や水色で、1ヵ月は標識場所を追うことが

できた【図1、2】。

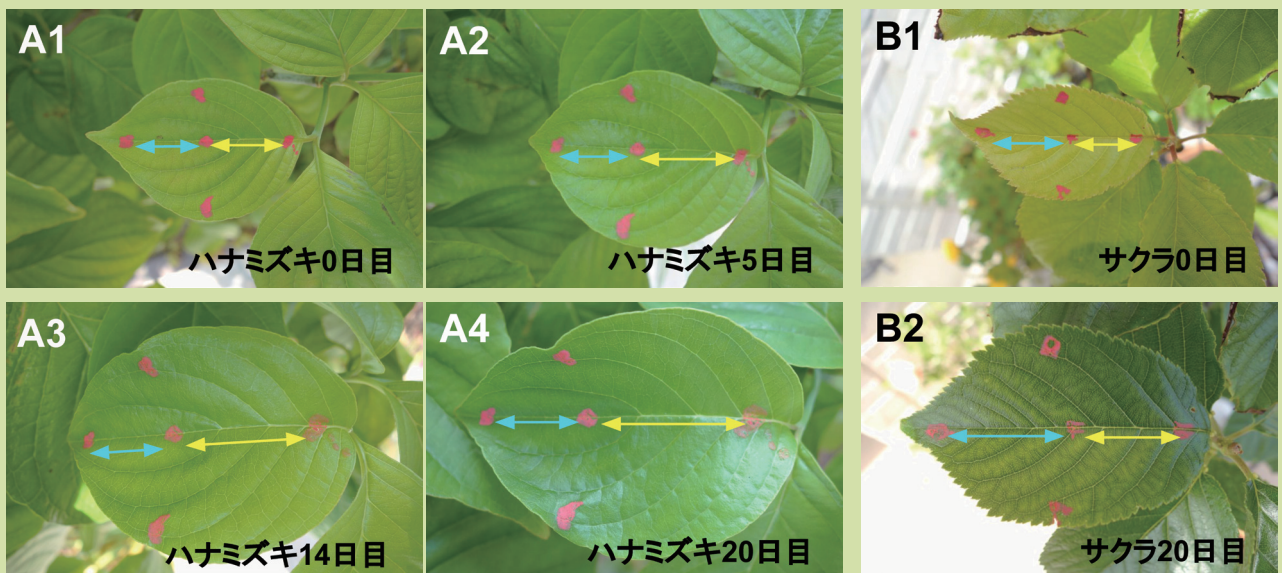
(3)デジカメ：スマホでも良い。標識した葉や花卉を撮影する場合、葉や花とカメラのレンズ面の距離をできるだけ揃えることが必要である。距離がバラバラだと、写真上から距離の変化を把握するのが難しくなる。そのため、葉とカメラの距離を一定にする工夫が必要である。あわせて、ものさしと一緒に撮影して、データ整理の際に倍率を揃えれば良い。

## 3. 実際の操作と観察

(1)葉を標識する：葉の中心を通る葉脈（主脈）上に、ペンで等間隔に印をつける。【図1】は、ハナミズキ葉、およびサクラ葉の先端部、中央部、基部、および中央部の両側の5箇所を標識した例である。毎回の撮影距離を揃えてあるので、標識点の間の距離はそのまま実際の長さを反映している。そのため、主軸に沿った場所ごとの成長の違いの有無やその量がわかり、また葉の側方（縁）の標識で、側方への広がりを理解出来る。ハナミズキの葉【図1A1-A4】では、葉の成長に伴い、中央と基部につけた印の間が顕著に長くなった（黄色両矢印）。一方、中央と先端につけた印の間は、観察期間を通してあまり長くならなかった（青色両矢印）。葉の両縁につけた点の位置も基部の標識点から離れたため、ハナミズキの葉の成長は「若い葉の基部から中央部分が大きく成長（伸長）することで進行する」ことがわかる。このハナミズキの結果に対し、サクラでは違う結果になった【図1B1-B2】。ハナミズキ葉と同じ場所を標識したサクラの葉を20日後に

観察すると、基部-中央と、中央-先端部の長さの比は概ね同じで、相対的な位置関係は概ね変わらなかった。葉の両縁につけた点の、相対的位置もあまり変わらなかった。そのため、サクラの葉は、「若い葉の形が成長段階でそのまま維持されていて、葉全体で概ね均等に成長する」と推測される。

(2)萼片を標識する：ハナミズキは春に白や赤の「花」をつけるが、これは花ではなく萼片が成長したものである。葉の場合と同様に萼片に印をつけてその成長を調べた【図2A】。萼片の成長は早く、短期間で変化がわかる。初期萼片の先端部、中央部、基部の3箇所を標識して、成長に伴う分布を調べた。その結果、これらの点はほぼそのまま先端側に移動していた【図2B-D】。初期萼片で基部（付け根）に付けた印は、萼片の中央部分に移動していた【図2D】。そのため広がった萼片で見えているのは、初期萼片の基部でほとんど見えなかった場所（付け根、図2Aのアステリスク）が広がったものであることがわかる。すなわちハナミズキ萼片は、「咲き始め」の頃と「満開」の頃では、



【図1】葉の標識の例

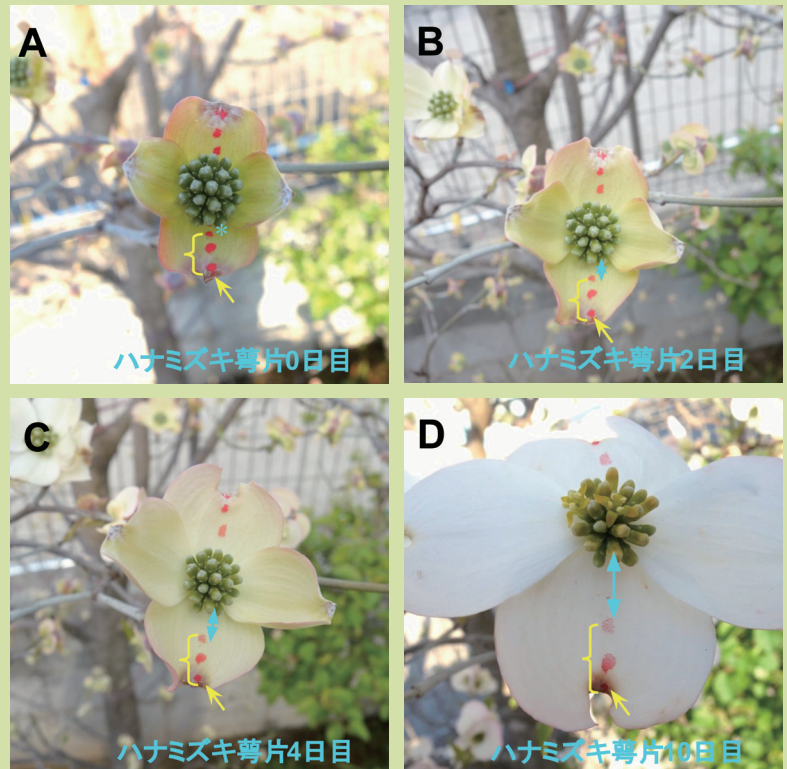
A1-A4：ハナミズキの葉。葉の基部から中央（黄色両矢印）と、中央から先端（青色両矢印）がほぼ等間隔（同じ長さ）になるように標識した。葉の成長に伴い、基部から中央にかけては顕著に長くなる（黄色両矢印）のに対し、中央から先端の長さはあまり変わらない（青色両矢印）。  
B1-B2：サクラの葉。ハナミズキとほぼ同じ場所を標識したが、20日目になっても標識した点の相対的な位置関係は概ね変わらず、基部から中央（黄色両矢印）と中央から先端（青色両矢印）の長さはほぼ同じだった。

大部分は別の部分が見えていることになる。

#### 4. 指導のポイント

葉の観察は、季節にもよるが、やり直しがきく。一方、花弁や萼片の観察は、一斉に開花することが多いので、その年のやり直しは難しい。面白い結果が得られても確認は翌年になることがある点は、生物材料を使うデメリットであるが、一方で、実験に臨む上で計画を立てておくことの重要さや、教科書に書かれている生命現象のいくつかは、時間（年）をかけて得られた結果であることを学ぶ機会になると思われる。写真を撮るだけでなく、点と点の間の長さを実測して、観察日ごとの長さを記録し変化をグラフ化するなどにより、部位ごとの成長割合を把握でき、定量的な実験になるだろう。

発展実験としては、標識場所にある細胞の数の変化や細胞の大きさを調べる実験が考えられる。葉や花弁を切片化することが可能であれば、標識部位の観察・撮影後に、ほぼ同じ大きさの葉や花弁を採集して切片を作製し、標識場所に相当する場所の細胞数や形態を比較すれば良い。よく成長する場所と、そうでない場所の細胞数や細胞の大きさを比較することで、成長する原因が細胞



【図2】萼片の標識の例

初期萼片の3箇所を等間隔で標識した。4日目までは標識した3点間の長さはほぼ変わらない（A-C、黄色括弧）のに対し、0日目に基部にあった場所（アスタリスク）が広がっている（青色両矢印）のに対し、10日目（D）では、標識した3点は萼片先端半分に移動し、最先端部は縁に達している（矢印）。一方、基部半分は0日目に標識点よりも基部で見えなかった場所が広がった（青色両矢印）ことがわかる。

数増加なのか、細胞自体の肥大なのかを推察できる。

下記に、今回の実験の参考となる記事が掲載されていたので、参照してほしい。

[https://jspp.org/hiroba/q\\_and\\_a/detail.html?id=3728](https://jspp.org/hiroba/q_and_a/detail.html?id=3728)